

сращения. В группе с повреждением висцеральной брюшины наблюдалась наибольшая летальность (умерло 6 крыс).

3. Как модель спаечной болезни в эксперименте для дальнейших исследований будет использоваться вариант с повреждением париетальной и висцеральной брюшины.

Литература:

1. Адамян, Л. В. Спаечный процесс в брюшной полости: история изучения, классификация, патогенез (обзор литературы) / Л. В. Адамян, А. В. Козаченко, Л. М. Кондратович // Проблемы репродукции. – 2013. – № 6. – С. 7–13.

2. Алиев, С. Р. Комплексный подход в лечении и профилактике спаечной болезни брюшной полости / С. Р. Алиев : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27. – М., 2009. – 32 с.

3. DiZerega, G. S. Contemporary adhesion prevention / G. S. DiZerega // Fertil. Steril. – 1994. – Vol. 61. – P. 219–235.

4. Кулаков, В. И. Послеоперационные спайки: этиология, патогенез, профилактика / В. И. Кулаков, Л. В. Адамян, О. А. Мынбаев. – М. : Медицина, 1998. – 527 с.

5. Effects of surgical technique on peritoneal adhesion formation after lysis. / G. Holtz, O. R. Kling // Fertil. Steril. – 1982. – Vol. 37, № 4. – P. 494–496.

6. Thompson, J. N. Preventing adhesions Text / J. N. Thompson // Lancet. 1995. – Vol. 346. – 1382 p.

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ЛИЗОЦИМА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ЕГО СОДЕРЖАНИЕ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ

Земко В.Ю., Какойченкова А.К., Окулич В.К.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Одним из факторов, определяющих устойчивость организма к микробным воздействиям, является лизоцим, содержащийся в слюне, слезах, желудочном соке, сыворотке крови и в других жидкостях и тканях [1]. Лизоцим продуцируют макрофаги и специальные эпителиальные клетки. Терапевтический эффект лизоцима связан с его антимикробным действием, зависящим от ферментативных свойств данного белка. Лизоцим расщепляет полностью или частично клеточные стенки многих видов микробов, состоящие из мукопептидов, глюкозаминопептидов и хитинов. В клинической лабораторной практике определение уровня лизоцима дает возможность оценить активность фагоцитарной системы и полезно в качестве мониторинга течения инфекционных и воспалительных заболеваний. [2]. Снижение лизоцима в сыворотке крови и особенно в слюне

может служить показателем хронической инфекции в организме. Более значительное снижение содержания лизоцима в биологических жидкостях можно использовать в качестве дополнительного теста дифференциальной диагностики хронического и острого состояния. Низкое содержание лизоцима до лечения в слюне и сыворотке и повышение его после терапевтических мероприятий является показателем эффективности проведенного лечения.

Цель: разработать способ определения количества лизоцима в биологических средах и определить его роль в инфекционной патологии в отделении реанимации.

Материал и методы. С целью иллюстрации возможности использования предложенного нами метода определения количества лизоцима в сыворотке крови была взята группа из 45 пациентов с бактериальной инфекцией, находящихся на лечении в РАО УЗ «ВОКБ». Средний возраст исследуемой группы составил $51,8 \pm 12,7$ лет. В качестве группы сравнения использовалась сыворотка крови 22 практически здоровых лиц.

Результаты и обсуждение. Нами разработан более простой и наименее затратный способ определения активности лизоцима, не требующий длительных временных затрат, обладающий четкими критериями оценки. Сущность предлагаемой нами методики заключается в предварительном выделении пептидогликана из клеточной стенки *M. lysodeikticus*, последующей его меткой Конго красным и возможностью длительного хранения при температуре - 25°C. Реализация данной задачи достигается за счет того, что из клеточной стенки культуры *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 предварительно получают субстрат пептидогликана по методике, предложенной Львовом В.Л., Пинегиным Б.В., Хаитовым Р.М. в нашей модификации. В качестве культуры использовали *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698, т.к. он наиболее чувствителен к действию лизоцима. Модификация методики заключалась в том, что суспензию пептидогликана, полученную после диализа, разбивали ультразвуком (аппарат «Тонзиллор-М») в течение 60 мин. Полученную суспензию с целью очистки пептидогликана от частиц ДНК обрабатывали ферментом ДНКазой в концентрации 1,7 мг на 1 мл и метили 2%-ым раствором Конго красного в соотношении 20 мкл на 1 мл суспензии. Затем проводили инкубацию в течение 10 минут при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$, центрифугировали 2 раза в течение 1 часа при 1,0 тыс. об/мин для удаления не связанного красителя. Оценку качества полученного субстрата проводили посредством конфокальной микроскопии.

Далее определяли активность лизоцима. В один ряд эппендорфов вносили последовательно: 300 мкл 0,06 М фосфатного буферного раствора (ФБР) pH 6,0, 100 мкл субстрата и 100 мкл биологического объекта. Во второй ряд эппендорфов - 300 мкл ФБР, 100 мкл субстрата и 100 мкл сыворотки, которую предварительно нагревали в течение часа при температуре 56°C для инактивации комплемента. Контролем служили пробы,

содержащие фосфатный буферный раствор pH 6,0 в количестве 300 мкл, 100 мкл 0,9% раствора NaCl и 100 мкл биологического объекта. Далее проводили инкубацию проб в термостате при $t=37^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч., затем пробы извлекали из термостата и центрифугировали в течение 7 мин (10 тыс. об/мин; MICRO 120). Из надосадка брали в дублях по 150 мкл раствора и переносили в лунки 96-луночного плоскодонного полистиролового планшета. При длине волны 492 нм определяли оптическую плотность в лунках. Промежуточный результат выражали в оптических единицах и рассчитывали как разность оптических плотностей опытных проб и соответствующих им контрольных. Для пересчета итогового результата активности лизоцима в мкг/мл была использована формула, полученная после проведения корреляционно-регрессионного анализа и построения подобранного калибровочного графика по разведенному, в котором отражена зависимость концентрации лизоцима от освобождения раствора Конго красного из субстрата.

Уравнение функции имело следующий вид:

$$X = 7318,72 * (E_{\text{опп}} - E_{\text{опк}})^{2,25783}$$

где X – активность лизоцима, в мкг/мл;

$E_{\text{опп}}$ – оптическая плотность пробы;

$E_{\text{опк}}$ – оптическая плотность контроля.

В результате исследования было установлено, что суммарное количество лизоцима и комплемента у пациентов с бактериальной инфекцией оказалось достоверно ниже (183,6; 141,2-298,7 мкг/мл), чем в группе сравнения (445,6; 350,7-816,7 мкг/мл). После инактивации комплемента как у пациентов с бактериальной инфекцией (116,0; 56,5-160,1 мкг/мл), так и в группе сравнения (246,7; 183,6-305,7 мкг/мл) происходит статистически значимое снижение количества лизоцима в сыворотке крови.

Получено уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение «Способ определения активности лизоцима в биологической среде» 19.12.2016 №а20160477.

Выводы. Разработан способ определения активности лизоцима в биологических жидкостях, включающий выделение пептидогликана из клеточной стенки *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 и подготовку реакционной смеси, состоящей из пептидогликана, меченого 2%-ым Конго красным, биологической жидкости, 0,06 М фосфатного буферного раствора pH 6,0. Установлен достоверный более низкий уровень лизоцима и комплемента в сыворотке крови у пациентов с бактериальной инфекцией, чем в группе сравнения. После инактивации комплемента в обеих группах происходит статистически значимое снижение лизоцима сыворотки крови. Значительная часть активности принадлежит лизоциму, так как разница между группой сравнения и пациентов с бактериальной инфекцией после инактивации комплемента сохраняется.

Литература:

1. Биохимия / И. П. Баскова [и др.]. – 2008. – Т. 73, вып. 3. – С. 388–394.
2. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – Медицина, 2005.

ЛАПАРОСКОПИЧЕСКАЯ ПИЕЛОПЛАСТИКА У ДЕТЕЙ ПРИ ВРОЖДЕННОМ ГИДРОНЕФРОЗЕ

Зуев Н.Н.,¹ Ясюченко В.П.,² Солонович А.П.,² Шмаков А.П.,¹ Зуева О.С.¹
УО «Витебский государственный медицинский университет»¹
УЗ «Витебский областной детский клинический центр»²

Актуальность. Гидронефроз - это прогрессирующее расширение чашечно-лоханочной системы вследствие нарушения проходимости лоханочно-мочеточникового сегмента, приводящее со временем к необратимым изменениям в паренхиме и нефросклерозу. Длительное время открытая операция по Хайнесс-Андерсену с резекцией измененного участка пиелоуретерального сегмента, являлась основным способом лечения. По данным различных авторов эффективность данной операции составляла более 90%. За последние два десятилетия в детской практике активно стала применяться лапароскопическая пиелопластика, эффективность колеблется от 96% до 100% [1,2].

В настоящее время лапароскопическая пиелопластика является альтернативой открытым операциям. В данной работе мы хотели бы продемонстрировать наш предварительный опыт лапароскопических операций и проанализировать собственные результаты.

Цель работы. Улучшение результатов лечения детей с гидронефрозом, путем внедрения в практику детской урологии лапароскопических методик.

Материал и методы. С 2014 по 2017 г в Витебском областной детском клиническом центре лапароскопическая пиелопластика была выполнена 16 детям с гидронефрозом различной степени. Среди них было 9 мальчиков и 6 девочек. Возраст пациентов составил от 3 месяцев до 15 лет. Левосторонний гидронефроз отмечался у 10 пациентов, правосторонний у 6.

Всем больным проводилось стандартное обследование, включавшее экскреторную урографию, микционную цистографию, УЗИ почек и мочевого пузыря, УЗИ с лазерной нагрузкой. При необходимости выполнялась компьютерная томография почек. Для оценки степени врожденного гидронефроза мы использовали классификацию Society of Fetal Urology, разработанную A. Onen в 2007 году:

I – изолированное расширение лоханки;